

**PENGARUH pH, WAKTU DAN KONSENTRASI DALAM MATRIKS KITOSAN-Ca
TERHADAP IMMOBILISASI ENZIM PAPAIN**



**Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I pada Jurusan
Teknik Kimia Fakultas Teknik**

Oleh:

VISTA ARISANTI

D 500 130 062

**PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNIK
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
2017**

HALAMAN PERSETUJUAN

**PENGARUH pH, WAKTU DAN KONSENTRASI DALAM MATRIKS KITOSAN-Ca
TERHADAP IMMOBILISASI ENZIM PAPAIN**

PUBLIKASI ILMIAH

oleh:

VISTA ARISANTI

D 500 130 062

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen Pembimbing

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Hamid Abdillah', with a stylized flourish at the end.

Hamid Abdillah, S.T., M.T

NIK. 894

HALAMAN PENGESAHAN

**PENGARUH pH, WAKTU DAN KONSENTRASI DALAM MATRIKS KITOSAN-Ca
TERHADAP IMMOBILISASI ENZIM PAPAIN**

OLEH

VISTA ARISANTI

D 500 130 062

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

Fakultas Teknik

Universitas Muhammadiyah Surakarta

Pada hari Rabu, 21 Desember 2016

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dewan Penguji:

1.Hamid Abdillah, S.T., M.T


(.....)

(Ketua Dewan Penguji)

2.Dr. Ir. A. M. Fuadi, M.T


(.....)

(Anggota I Dewan Penguji)

3.Rois Fatoni, S.T., M.Sc., Ph.D


(.....)

(Anggota II Dewan Penguji)

Dekan,



Idris Sunarjono, M.T., Ph.D

NIK: 682

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 24 Oktober 2017

Penulis



VISTA ARISANTI

D 500 130 062

PENGARUH pH, WAKTU DAN KONSENTRASI DALAM MATRIKS KITOSAN-Ca TERHADAP IMMOBILISASI ENZIM PAPAIN

Abstrak

Immobilisasi enzim adalah pelekatan enzim secara fisik maupun kimia pada padatan pendukung yang tidak dapat larut dalam air. Immobilisasi enzim dapat dilakukan dengan berbagai cara, salah satunya adalah dengan absorpsi pada matriks menggunakan kitosan atau disebut juga *crosslinking*. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui kondisi optimal pada immobilisasi enzim. Enzim yang digunakan adalah enzim papain. Agen *crosslinking* yang digunakan adalah CaCl_2 . Variabel untuk pengujian immobilisasi enzim papain adalah pH, waktu dan konsentrasi enzim. Rentang pH untuk immobilisasi enzim papain adalah 6-9, waktu adalah 3-12 jam dan konsentrasi 10-40 mg/mL. Kondisi optimal pada immobilisasi enzim papain adalah pada pH 8, waktu immobilisasi 6 jam dan konsentrasi enzim 40 mg/mL.

Kata Kunci: enzim, immobilisasi, CaCl_2 .

Abstracts

Immobilization of enzyme is attachment enzyme both physically and chemically to an insoluble support solid in water. Immobilization of enzymes can be done in various ways, one of them is absorption on matrix with chitosan or also called crosslinking. The purpose of this research is to know optimum conditions in immobilized enzymes. The enzyme used is papain enzyme. Crosslinking agent used is CaCl_2 . Variables for immobilized papain enzyme are pH, time and concentration of enzyme. The pH range for immobilization of papain enzyme is 6-9, the time is 3-12 hours and the concentration is 10-40 mg/mL. The optimum conditions for immobilized papain enzyme were at pH 8, immobilization time 6 hours and concentration of enzyme 40 mg/mL.

Keywords: enzyme, immobilization, CaCl_2 .

1. PENDAHULUAN

Enzim merupakan unit fungsional dari metabolisme sel. Bekerja dengan urutan yang teratur, enzim mengkatalisis ratusan reaksi bertahap yang menguraikan molekul nutrien, reaksi yang menyimpan dan mengubah energi kimiawi dan yang membuat makromolekul sel dari prekursor sederhana (Lehninger, 1990).

Enzim, seperti protein lain, mempunyai berat molekul yang berkisar 12.000 sampai lebih dari 1 juta. Oleh karena itu, enzim berukuran amat besar dibandingkan dengan substrat atau gugus fungsional targetnya. Enzim terdiri dari polipeptida dan tidak mengandung gugus kimiawi selain residu asam amino. Akan tetapi ada sebagian enzim yang memerlukan komponen kimia bagi aktivitasnya yang disebut kofaktor (Lehninger, 1990).

Papain merupakan enzim proteolitik hasil isolasi dari penyadapan getah buah pepaya (*Carica papaya L.*). Getah pepaya mengandung sebanyak 10% papain, 45% kimopapain dan lisozim sebesar 20% (Winarno, 1995).

Papain memiliki fungsi untuk menaikkan aktivitas proteolitik dari protein, asam amino dan pada amida. Selain itu juga digunakan pada bidang pangan dan medis (Ding, Yao, Li, Yue, & Chai, 2003).

Immobilisasi enzim adalah suatu proses dimana enzim yang secara fisik ditempatkan pada suatu tempat tertentu sedemikian rupa sehingga aktivitas katalitiknya tetap ada dan dapat digunakan berulang kali. (Cahyaningrum, 2014).

Pada proses immobilisasi diperlukan matriks pendukung dan metode yang tepat sesuai dengan sifat fisik dan kimia enzim sehingga hasilnya mempunyai penurunan aktivitas yang minimum (Cahyaningrum, 2014).

Metode immobilisasi yang dikenal antara lain adsorpsi fisik pada padatan pendukung (*carrier binding*), taut silang (*cross linking*) dan penjebakan (*entrapment*). Diantara ketiga metode tersebut yang paling sering digunakan adalah metode taut silang (*cross linking*). Metode ini memiliki kelebihan yaitu ikatan antara enzim dan padatan pendukung stabil sehingga enzim tidak mudah terlepas dan substrat dapat berinteraksi maksimal karena enzim berada di permukaan padatan pendukung (Brena *et al.* 2006 ; Wardoyo, Adi Fandhi. 2013).

Kitosan dapat diaplikasikan sebagai adsorben dalam bidang lingkungan, biologi, medis dan farmasi. Dalam bidang biologi kitosan diaplikasikan salah satunya pada enzim. Kitosan bisa digunakan untuk menjadi matriks pendukung immobilisasi enzim direaksikan dengan logam, alginat, glutaraldehid (Sugita dkk, 2009).

Penelitian ini merujuk pada penelitian sejenis yang telah dilakukan seperti penelitian yang dilakukan oleh Sari Edi Cahyaningrum dkk tentang immobilisasi enzim papain dengan kitosan yang telah ditaut silang dengan Mg(II) serta Khrisna Stefanus Pamungkas dkk mengenai kitosan sebagai matriks pendukung immobilisasi enzim.

2. METODE

Alat-alat yang digunakan antara lain cawan porselen, corong kaca, erlenmeyer, gelas beaker, kertas saring, labu ukur, pengaduk kaca, pH meter, pipet tetes, pipet ukur, pipet volume, sentrifuge, spektrometer UV-Vis, tabung reaksi, tabung sentrifuge dan timbangan analitik. Sedangkan bahan yang digunakan adalah aquadest, buffer fosfat, CaCl_2 , enzim papain dan kitosan. Prosedur penelitian yang dilakukan yaitu persiapan bahan baku antara lain kitosan dan enzim papain.

Prosedur yang kedua yaitu persiapan matriks kitosan-Ca dengan cara 100 mg kitosan dicampurkan dengan 10 mL larutan Ca (II) konsentrasi 500 mg/mL. Pencampuran dilakukan selama 60 menit. Setelah itu sampel disaring. Kitosan yang didapatkan berikatan dengan kation lalu dicuci dengan akuades. Setelah itu dikeringkan dan digunakan sebagai matriks kitosan-Ca.

Prosedur yang ketiga yaitu penentuan pH optimal untuk immobilisasi enzim dengan cara sebanyak 100 mg matriks kitosan-Ca direaksikan dengan 5 mL larutan papain dengan konsentrasi 20 mg/mL. pH yang digunakan bervariasi antara 6–8 menggunakan buffer fosfat. Reaksi tersebut berlangsung selama 12 jam. Setelah reaksi selesai sampel disaring. Jumlah papain mobil dalam filtrat ditentukan dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang $\lambda = 595 \text{ nm}$.

Prosedur keempat yaitu penentuan waktu optimal untuk immobilisasi enzim dengan cara sebanyak 100 mg matriks kitosan-Ca direaksikan dengan 5 mL larutan papain dengan konsentrasi 20 mg/mL. pH dari larutan papain yang digunakan adalah pH optimal dari percobaan sebelumnya, dengan waktu reaksi antara 3-12 jam. Setelah direaksikan sampel disaring. Jumlah papain mobil dalam filtrat ditentukan dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang $\lambda = 595 \text{ nm}$.

Prosedur kelima yaitu penentuan konsentrasi enzim papain optimal untuk immobilisasi enzim dengan cara sebanyak 100 mg matriks kitosan-Ca direaksikan dengan 5 mL larutan papain, dengan variasi konsentrasi antara 10-40 mg/mL, pH papain yang digunakan adalah pH optimal dari percobaan sebelumnya, waktu immobilisasi yang digunakan adalah waktu optimal dari percobaan sebelumnya. Setelah direaksikan sampel disaring. Jumlah papain mobil dalam filtrat ditentukan dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang $\lambda = 595 \text{ nm}$.

Prosedur terakhir yaitu uji *reusability* enzim papain immobil dengan cara enzim papain immobil diuji aktivitas enzim untuk mengetahui enzim tersebut dapat digunakan berapa kali.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dan pembahasan dari penelitian tentang immobilisasi enzim papain adalah sebagai berikut:

3.1 Hasil

Untuk pH 6 dengan hasil spektro 0,058 dapat dihitung:

- Jumlah papain terimmobil = papain murni – absorbansi papain mobil
 = 0,155 – 0,058
 = 0,097
- Persentase papain terimmobilisasi = (papain terimmobil/papain murni)×100%
 = (0,097/0,155)×100%
 = 62,58%

Langkah tersebut dilakukan untuk pH 7 dan 8.

Tabel 1. Pengaruh pH terhadap immobilisasi enzim papain dengan matriks kitosan-Ca

pH	Papain Immobil (mg/mL)	Persentase (%)
6	0,097	62,58
7	0,067	43,23
8	0,123	79,35

Untuk waktu 3 jam dengan hasil spektro 0,105 dapat dihitung:

- Jumlah papain terimmobil = papain murni – absorbansi papain mobil
= 0,155 – 0,105
= 0,050
- Persentase papain terimmobilisasi = (papain terimmobil/papain murni)×100%
= (0,050/0,155)×100%
= 32,26%

Langkah tersebut dilakukan untuk waktu 6,9 dan 12 jam.

Tabel 2. Pengaruh waktu terhadap immobilisasi enzim papain dengan matriks kitosan-Ca

Waktu	Papain Immobil (mg/mL)	Persentase (%)
3	0,0500	32,26
6	0,0620	40
9	0,0641	41,33
12	0,0646	41,70

Untuk konsentrasi 10 mg/mL dengan hasil spektro 0,1429 dapat dihitung:

- Jumlah papain terimmobil = papain murni – absorbansi papain mobil
= 0,155 – 0,1429
= 0,0121
- Persentase papain terimmobilisasi = (papain terimmobil/papain murni)×100%
= (0,0121/0,155)×100%
= 7,81%

Langkah tersebut dilakukan untuk konsentrasi 20-40 mg/mL.

Tabel 3. Pengaruh konsentrasi enzim terhadap immobilisasi enzim papain dengan matriks kitosan-Ca

Konsentrasi (mg/'mL)	Papain Immobil (mg/mL)	Persentase (%)
10	0,0121	7,81
20	0,0159	10,32
30	0,0470	30,32
40	0,0370	23,88

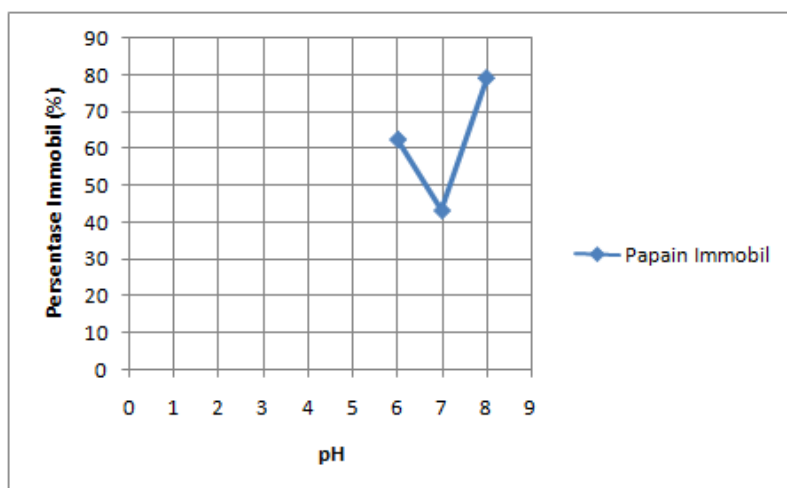
Tabel 4. *Reusability* pada immobilisasi enzim papain

No	Aktivitas (U/mg)
1	0,8287
2	0,4000
3	0,2071
4	0,1862

3.2 Pembahasan

a. Pengaruh pH terhadap immobilisasi enzim papain dengan matriks kitosan-Ca

Pengaruh pH terhadap immobilisasi enzim papain dilakukan untuk mengetahui pH optimal yang dibutuhkan oleh papain agar dapat terimmobilisasi dengan matriks kitosan-Ca. Data pengaruh pH dapat dilihat pada Gambar 1.



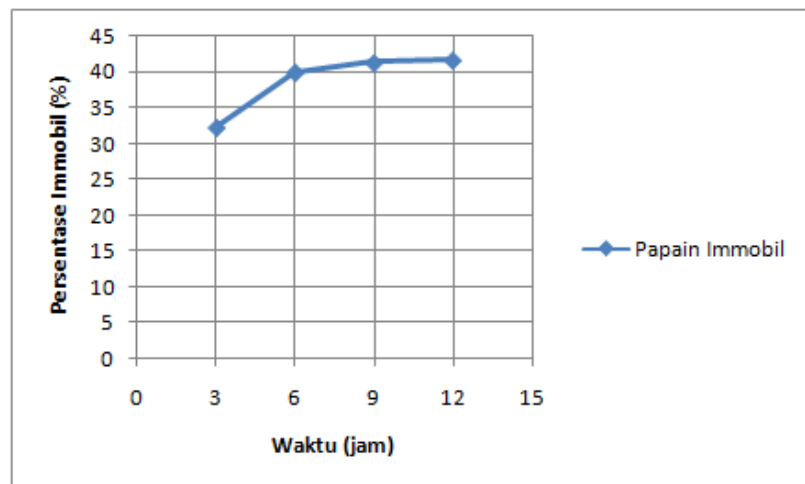
Gambar 1. Grafik pengaruh pH pada immobilisasi papain dengan matriks kitosan-Ca

Pada Gambar 1 dapat diketahui bahwa papain immobil memiliki persentase terendah pada pH 7 sebesar 43,23% dan memiliki persentase tertinggi pada pH 8 yaitu 79,35%, hal ini kurang sesuai dengan penelitian sebelumnya (Cahyaningrum, 2008). Pada penelitian sebelumnya didapatkan pH optimal adalah 7, sedangkan pada penelitian ini didapatkan pH optimal pada pH 8.

Faktor yang mendasari perbedaan pH optimal adalah sifat bahan seperti kebasaan yang digunakan sebagai matriks kitosan.

b. Pengaruh waktu terhadap immobilisasi papain dengan matriks kitosan-Ca

Pengaruh waktu pada immobilisasi papain dilakukan untuk mengetahui waktu optimal yang dibutuhkan oleh papain agar dapat terimmobilisasi dengan matriks kitosan-Ca. Data pengaruh waktu dapat dilihat pada Gambar 2.

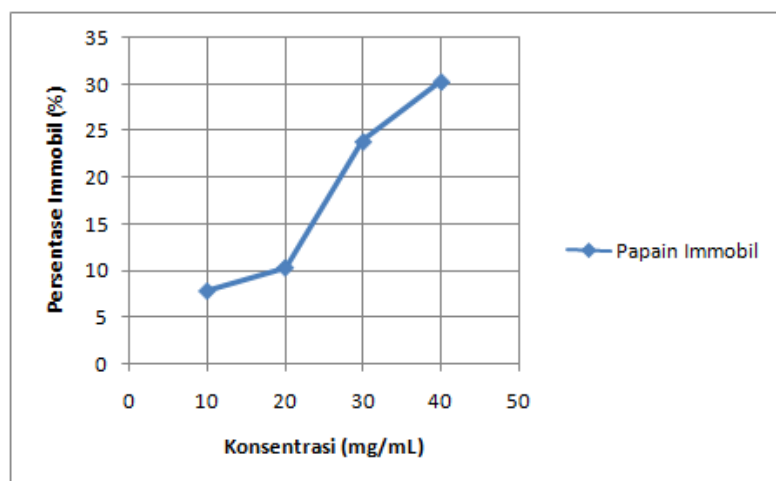


Gambar 2. Grafik pengaruh waktu pada immobilisasi papain dengan matriks kitosan-Ca

Gambar 2 menunjukkan waktu berpengaruh terhadap proses immobilisasi papain dengan kitosan-Ca. Pada 3 jam persentase papain immobil sebesar 32,26%. Pada waktu 6 jam jumlah papain immobil sebesar 40%. Setelah 6 jam, jumlah papain terimmobilisasi relatif konstan hingga 12 jam waktu immobilisasi. Dalam kondisi ini, jumlah papain immobil mencapai kondisi optimal pada waktu 6 jam, dimana sisi aktif dari matriks mengalami kondisi jenuh setelah bereaksi dengan papain sehingga persentase papain immobil cenderung konstan (Cahyaningrum, 2008). Hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu (Cahyaningrum, 2008).

c. Pengaruh konsentrasi terhadap immobilisasi papain dengan matriks kitosan-Ca

Pengaruh konsentrasi pada immobilisasi papain dilakukan untuk mengetahui konsentrasi optimal yang dibutuhkan oleh papain agar dapat terimmobilisasi dengan matriks kitosan-Ca. Data pengaruh konsentrasi dapat dilihat pada Gambar 3.

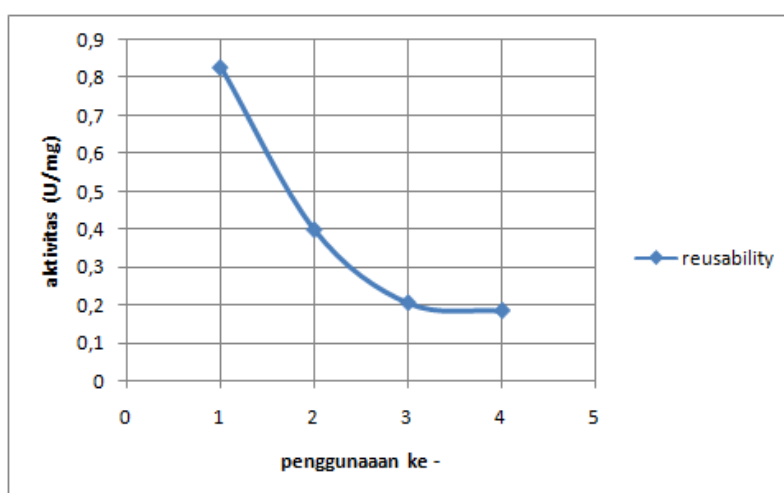


Gambar 3. Grafik pengaruh konsentrasi pada immobilisasi papain dengan matriks kitosan-Ca

Pengaruh konsentrasi terhadap immobilisasi papain dengan matriks kitosan-Ca dapat dilihat pada Gambar 3. Pada konsentrasi 10 mg/mL didapatkan persentase papain immobil sebesar 7,81%. Untuk konsentrasi 20 mg/mL jumlah papain immobil sebesar 10,32%. Pada konsentrasi 30 mg/mL jumlah papain immobil sebesar 23,88%. Dan pada konsentrasi 40 mg/mL jumlah papain immobil sebesar 30,32%. Semakin tinggi konsentrasi papain maka semakin tinggi juga persentase papain immobilnya.

d. *Reusability* dari Papain Immobil

Enzim immobil dapat digunakan lebih dari satu kali dibandingkan dengan *free* enzim, aktivitas enzim dapat ditingkatkan karena enzim tidak terkontaminasi dengan produk dan produk yang dihasilkan tidak terkontaminasi oleh enzim. Papain immobil dapat digunakan berulang disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Grafik *reusability* papain immobil

Gambar 4 menunjukkan bahwa penggunaan papain immobil berulang akan menurunkan aktivitas enzim. Papain immobil dapat digunakan 2 kali. Dimana, pada kali ketiga dan empat pemakaian, aktivitas enzim menurun hingga setengah dari pemakaian enzim kali kedua. Papain immobil memiliki keuntungan antara lain seperti bisa digunakan secara kontinyu, mempercepat reaksi, mengontrol formasi produk, memudahkan enzim untuk lepas dari produk, memiliki stabilitas termal yang baik. Pada penelitian terdahulu (Pamungkas, 2011) yang menggunakan larutan ammonia sulfat jenuh dimana pengulangan penggunaan enzim mampu mencapai 5 kali. Hal ini terjadi karena sifat bahan yang dijadikan matriks kitosan berbeda sehingga hasilnya juga berbeda.

4. PENUTUP

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil bahwa kondisi optimal untuk immobilisasi enzim papain adalah pH 8, waktu immobilisasi 6 jam dan konsentrasi 40 mg/mL. Untuk *reusability* enzim papain dengan matriks kitosan-Ca adalah 2 kali. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan disarankan untuk penelitian selanjutnya agar penyimoanan enzim papain sebaiknya diperhatikan, karena enzim akan rusak jika terkena suhu terlalu tinggi serta pembuatan reagen sebaiknya diperhatikan, karena rentan terkontaminasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Altschul, A.M. (1976). *New Protein Foods*. New York: Academic Press Inc.
- Brena, B.M, dan Batista-Viera, F. (2006). *Immobilization of Enzymes, 1th edition*. Totowa : Humana Press.
- Cahyaningrum, S. E. (2014). Studi Peranan Ion Logam Pada Proses Imobilisasi Enzim Papain. *Seminar Nasional Kimia Dan Pendidikan Kimia VI*, 194–204.
- Cahyaningrum, S. E., & Agustini, R. (2007). Pemakaian Kitosan Limbah Udang Windu sebagai Matriks Pendukung. *Akta Kimindo*, 2(2), 93–98.
- Datta, S., Christena, L. R., & Rajaram, Y. R. S. (2012). Enzyme immobilization: an overview on techniques and support materials. *Biotech*, 3,1–9.
- Devraj, K. M., Ramanjaneyulu, K., Narendar, K., Ravikanth, V., Saisupraja, B., Alankritharani, P., & Lakshmi, S. (2011). Evaluation of Papain Immobilization in Chitosan Nanoparticles using different crosslinking agents. *Journal of Pharmacy Research*, 4(8), 8–10.
- Ding, L., Yao, Z., Li, T., Yue, Q., & Chai, J. (2003). Study on Papain Immobilization on a

Macroporous Polymer Carrier. *Turkish Journal of Chemistry*, 27(5), 627–637.

Eed, J. (2012). Factors affecting Enzyme Activity. *Essai*, 10, 48–51.
<http://dc.cod.edu/essai/vol10/iss1/19>.

Lehninger AL. (1990). *Dasar-dasar Biokimia*. terjemahan Maggy Thenawidjaya., Jakarta: Penerbit Erlangga.

Ma, L., Jia, I., Guo, X., & Xiang, L. (2014). Papain enzyme supported on magnetic nanoparticles: Preparation, Characterization and application in the fruit juice clarification. *Chinese Journal of Catalysis*, 35(2), 108–119.

Muzzarelli, R. A. A. (1973). *Natural Chelating Polymer*. New York : Pergamon Press.

Pamungkas, K. S. (2011). Kitosan Sebagai Matriks Pendukung Immobilisasi Papain. *Prosiding Tugas Akhir Semester Genap 2010/2011*. Institut Teknologi Sepuluh November, Fakultas MIPA, Jurusan Kimia.

Pereira, A. G. B., Muniz, E. C., & Hsieh, Y. Lo. (2014). Chitosan-sheath and chitin-core nanowhiskers. *Carbohydrate Polymers*, 107(1), 158–166.

Rukmana. (1995). *PEPAYA Budidaya dan Pascapanen*. Yogyakarta : Kanisius.

Sugita, P, dkk., (2009). *Kitosan: Sumber Biomaterial Masa Depan*. IPB Press, Bogor.

Wardoyo, Fandhi Adi. (2013). Immobilisasi Lipase dengan Taut Silang Pada Kitosan Serbuk dan Uji Aktivitas Hidrolisisnya Terhadap Minyak Kelapa Sawit. (Tesis S2). Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada.

Warisno. (2003). *Budidaya Pepaya*. Yogyakarta : Kanisius.

Winarno, F.G. (1995). *Enzim Pangan*. Jakarta : Gramedia Pustaka Utama